云 南 植 物 研 究 2000，22（4）：456～460
Acta Botanica Yunnanica

Hg^{2+}污染对莼菜冬芽幼叶细胞超微结构伤害的研究*

施国新，杜开和，解凯彬，丁小余，常福辰，陈国祥
（南京师范大学生物系，江苏 南京 210097）

摘要：报道了Hg^{2+}污染对莼菜冬芽幼叶毒害引起的叶片受害症状和叶肉细胞的超微结构变化。冬芽在Hg^{2+}浓度5mg/L处理15 d时，叶片开始褪绿，腺毛收缩扭曲，粘液减少，细胞中高尔基体消失，核糖体减少，线粒体出现解体。在相同处理时间中，随着Hg^{2+}浓度增加，细胞出现质膜收缩，胞间连丝断裂，核仁裂解成多个小核仁，叶绿体膨胀，类囊体解体。在Hg^{2+}浓度15mg/L时，细胞核解体，细胞死亡。经观察，Hg^{2+}对莼菜冬芽毒害的致死量在2.5～5mg/L。

关键词：莼菜；冬芽；Hg^{2+}污染；超微结构
中图分类号：Q 942，X 503　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0253－2700（2000）04－0456－06

A Study on the Damage of Hg^{2+} Pollutant to the Ultrastructural Changes of Young Leaves of *Brasenia schreberi* Winter Bud

SHI Guo－Xin，DU Kai－He，XIE Kai－Bin，DING Xiao－Yu，CHANG Fu－Chen，CHEN Guo－Xiang
（*Department of Biology*，*Nanjing Normal University*，Nanjing 210097，China）

Abstract：The symptoms of the young leaves and ultrastructural changes of mesophyll cells of *Brasenia schreberis* winter buds when induced by poisoning of Hg^{2+} pollution are reported in this paper. When winter buds were treated with a concentration of Hg^{2+} in 5mg/L solution within 15 days，the leaves gradually lost their green color；glandular hairs contracted and twisted and mucilagenous material of the leaves was greatly reduced. The ultrastructural changes of the mesophyll cell showed the disappearance of Golgi apparatus and reduction of ribosomes with integration of mitochondria. Increasing of Hg^{2+} concentration on the same days of treatment as above，caused changes in the ultrastucture of the cells. It showed contraction of plasmalemma and snap of plasmodesmata，nucleolus broke into several parts，chloroplasts swelled and thylakoids disintegrated. When winter buds were treated with concentration of Hg^{2+} increased to 15mg/L，the nucleus of cell broke down and cells died. According to our observation，the lethal concentration of Hg^{2+} to the winter bud of *B. schreberi* ranges from 2.5 to 5mg/L.

Key words：*Brasenia schreberi*；Winter bud；Pollution of Hg^{2+}；Ultrastructure

* 基金项目：国家自然科学基金和江苏省自然科学基金资助
收稿日期：1999－07－05，1999－09－16接受发表。

重金属离子对植物的毒害及由此产生的对人体健康的威胁是近年来人们所关注的重要的环境污染问题之一。根据我们多年来对水生植物的观察和研究，已发现工农业生产中排放的各种废物废水，特别是重金属离子污染水环境对水生植物的生长发育产生了不可忽视的影响。植物叶片出现黑褐色斑点，生长受阻现象常有发现。

Hg^{2+} 是危害植物毒性最强的元素之一，而且植物受 Hg^{2+} 污染时间越长，伤害越严重，最后可导致植物枯萎死亡（廖自基，1992）。有关 Hg^{2+} 对被子植物的毒害研究目前主要集中在生理生化和植物对 Hg^{2+} 的吸收，积累及迁移转化（祁忠占等，1991；Spalting，1979）。把莼菜（*Brasinia schreberi* Gmel.）冬芽作为研究对象是因为莼菜是江浙地区栽培的特色经济蔬菜，其幼叶极富营养价值。冬芽沉水生长，能安全越冬，翌年春天生根展叶形成新的植株，是莼菜生产上扩种的营养繁殖体，也是我们多年来专题研究的对象。本研究试图通过 Hg^{2+} 污染水处理，找出 Hg^{2+} 对莼菜冬芽幼叶细胞毒害的规律性及叶片外部形态上的伤害特征，为重金属离子毒害植物产生的生理生化反应提供细胞学上的佐证，同时为生产实践中及时发现，查明及排除 Hg^{2+} 污染源及筛选灵敏的水污染监测植物提供理论依据。

1　材料和方法

材料取自江苏省苏州东山镇太湖边莼菜荡内的莼菜冬芽，将冬芽分别培养于无底泥的含有 0，2.5，5，7.5，10，15，20，25 mg/L $HgCl_2$（以纯 Hg^{2+} 计）无离子溶液中，平均温度为 22℃。由于冬芽生长的营养来源于其粗壮茎节中积累的养分，所以无泥土培养不影响冬芽的正常生长。叶面积受害比用常规方法测定（丁小余等，1998）。冬芽在梯度 $HgCl_2$ 溶液中培养 15 d。当 25 mg/L $HgCl_2$ 溶液中冬芽幼叶受毒害而呈褐色斑面积达 42％时，统一从各梯度培养液中冬芽 1.5 cm 长的幼叶上分别切取组织块。

组织块按 2.5％戊二醛和 2％锇酸双重固定，丙酮系列脱水，Epon812 包埋，LKB 超薄切片机切片；切片经醋酸双氧铀–柠檬酸铅双重染色后于 Hitachi 600–A–2 型透射电镜下观察和拍片。另取同样组织块用 FAA（50％）液固定，常规石蜡包埋，制成厚度为 7～8 μm 的切片；切片用铁矾–苏木精染色，于光镜下观察。

2　观察结果

2.1　外部形态及显微结构观察

莼菜幼叶长 1.5 cm 在采收指标上称小级，食用质量属上品（张四美等，1985）。对照溶液培育 15 d 的冬芽幼叶外为浓厚透明的粘液包裹，叶呈深绿色，叶背腺毛发达，叶肉厚度为 205 μm。栅栏组织一般仅由一层细胞组成，细胞质浓，细胞核清晰可见。海绵组织椭圆形，排列相对疏松。叶肉细胞内均含淀粉粒（图版Ⅰ：1）。

2.5mg/L $HgCl_2$ 溶液培育的冬芽及幼叶在外观形态及显微结构上与对照并无明显差异。但在 5mg/L $HgCl_2$ 溶液中的冬芽幼叶明显呈淡绿色，叶缘呈淡黄色，失绿现象开始出现。包裹幼叶的粘液明显减少，腺毛呈收缩扭曲状态。上下表皮细胞在显微结构上渐呈空泡状，栅栏组织和海绵组织细胞出现排列不整齐现象，细胞中核不明显（图版Ⅰ：3），冬芽上的老叶出现坏死斑，面积达 18％。

在 10mg/L $HgCl_2$ 溶液中的幼叶，叶背着生的腺毛已萎缩脱落，包裹幼叶的粘液消失，

细胞形态不规则，淀粉粒明显减少，叶缘出现零星褐色坏死斑。在 20mg/L $HgCl_2$ 溶液中，幼叶已褪绿，仅在叶柄着生处尚存一点黄绿色，细胞结构极度变形，淀粉粒消失，褐色坏死斑面积平均达 34%，部分老叶腐烂脱落。

2.2 超微结构观察

对照溶液培育的冬芽，其幼叶栅栏组织细胞中核位于中央位置，核膜完整，核仁明显，核质均匀；细胞中充满积累淀粉粒的叶绿体，在紧贴细胞壁位置可观察到零星叶绿体中无淀粉粒存在；叶绿体外膜完整，类囊体发育正常（图版 I：2）。线粒体，内质网，高尔基体等细胞器散布于细胞基质中，缺乏大型液泡，细胞之间的壁层中可见到发育良好的胞间连丝（图版 I：4）。

在 5mg/L $HgCl_2$ 溶液中的幼叶栅栏组织细胞，首先出现变化的细胞器是高尔基体解体消失，核糖体急剧减少；细胞基质电子密度降低，线粒体清晰可见；一些线粒体内部的脊突开始解体，有的外膜出现破损。沿细胞壁的质膜不规则地向内凹陷收缩，叶绿体结构仍呈完整状态（图版 I：7）。

在 10mg/L $HgCl_2$ 溶液中，幼叶栅栏组织细胞的质膜完全脱离细胞壁，胞间连丝被拉断（图版 I：5）。细胞基质集聚成高电子密度的絮状物。叶绿体膨胀成圆球形，内中淀粉粒明显变小，类囊体膜排列混乱，部分叶绿体外膜破损，致使淀粉粒脱离叶绿体，部分类囊体膜松散游离于细胞基质中。细胞中其它的细胞器已完全破坏消失（图版 I，6）。细胞核核膜仍保持完整，但核仁已解体分散成多个，主要沿核膜分布，核质呈高电子密度的颗粒状态（图版 I：8）。

在 15mg/L $HgCl_2$ 溶液中的冬芽，其幼叶栅栏组织细胞的质膜完全脱离细胞壁，整个原生质体收缩呈椭圆形，核膜破裂，核质与细胞内的物质混合成高电子密度的残存物。细胞中还有一些小泡和尚未完全解体的叶绿体存在（图版 I：9）。由于细胞壁的存在，所以在光镜下观察，细胞形态虽不规则，但细胞轮廓仍是完整的。在 20mg/L $HgCl_2$ 溶液中，幼叶栅栏组织细胞内部结构全部解体，细胞壁极度扭曲。

在 $HgCl_2$ 溶液浓度梯度中经历 50 d 培育的冬芽，除了 2.5mg/L $HgCl_2$ 溶液和对照溶液培育的冬芽 50 d 后移植到水生植物培育池中安全越冬外，其余浓度培育的冬芽在 50 d 内全部死亡，浓度越高，死亡越早。

3 讨论

受重金属离子毒害的植物外部最明显的特征是叶片褪绿。Stobart 等（1985）观察到重金属毒害使叶褪绿是叶绿素生物合成所需的酶受到破坏的结果。张志杰等（1989）也观察到随着重金属浓度的增加，植物叶绿素含量逐渐降低的现象。Hg^{2+} 是植物的非必须元素，易与酶活性中心的 SH 基结合，抑制和破坏酶的活性（张毓琪等，1993）。经观察，受 $HgCl_2$ 毒害的莼菜冬芽幼叶细胞中细胞器的变化和破坏可以佐证前人生理生化方面研究的结论。在 5mg/L $HgCl_2$ 溶液培育的莼菜冬芽幼叶细胞中，核糖体与对照相比，数量明显减少，是细胞中受 Hg^{2+} 毒害后最先遭到破坏的细胞器之一。核糖体是合成蛋白质（主要是各种酶）的场所（Bogorad，1975），这表明 Hg^{2+} 不仅抑制和破坏酶的活性，同时在 5mg/L $HgCl_2$ 就可以破坏产生酶的核糖体，从而使合成叶绿素的酶系彻底破坏，出现叶片褪绿。

在 10mg/L $HgCl_2$ 溶液中，幼叶细胞中叶绿体膨胀，类囊体膜遭到破坏，使幼叶褪绿面积急剧增加。

重金属毒害植物使叶片呼吸强度减弱（张志杰等，1989），目前主要用生理方法测定。植物呼吸强度变化是一系列酶促反应的结果，酶系的破坏是呼吸强度减弱的主要原因。在受 Hg^{2+} 毒害的莼菜幼叶细胞中，5mg/L $HgCl_2$ 浓度处理就使呼吸作用的线粒体内部脊突破坏，部分线粒体开始解体，从而直接影响到植物的呼吸功能。

从细胞结构上来分析植物受重金属毒害所引起的叶片光合速率和呼吸作用下降的原因，目前尚缺乏同类观察的参考资料，所以我们的结论仍是初步的和探讨性的。

近年来报道较多的是植物受重金属毒害，根尖细胞出现微核现象（段昌群等，1995）。这些研究主要集中在陆生植物，而水生植物尚无此类观察结果。莼菜是根生浮叶植物，水环境受污染，叶片直接接触。我们观察莼菜幼叶在 10mg/L $HgCl_2$ 溶液处理下，叶肉细胞未出现微核现象，但出现多个小核仁现象，且主要分布在沿核膜位置。这是正常核仁受 Hg^{2+} 毒害后解体的结果，明显影响其正常的生理功能。冬芽是莼菜越冬的营养繁殖体，幼叶（包括生长锥）外表包裹多糖粘液是某些水生植物特有的保护层，对防止水流冲击，越冬阶段防冻起到保护作用（施国新等，1993）。受 Hg^{2+} 毒害的冬芽粘液减少和消失，主要是腺毛受毒害后死亡脱落。从细胞超微结构观察，高尔基体在 5mg/L $HgCl_2$ 处理的叶肉细胞中消失，高尔基体是合成莼菜多糖粘液的唯一细胞器（施国新等，1991）。所以，在 5mg/L $HgCl_2$ 处理的冬芽，外部已经失去了防冻的粘液保护，加上细胞中线粒体等细胞器的破坏，就不能正常越冬。据观察结果，我们认为 Hg^{2+} 对植物细胞的毒害并不是只破坏某些酶或某些细胞器，而是对细胞的整体毒害，包括细胞基质，核质，染色质和膜系统。Hg^{2+} 污染水溶液对莼菜冬芽的致死量应在 2.5～5mg/L。

〔参 考 文 献〕

丁小余，施国新，常福辰等，1998. Cd^{2+}污染对莼菜叶片形态学伤害反应的研究〔J〕. 西北植物学报，**18**（3）：417～422

祁忠占，彭永康，宋玖雪，1991. 汞对蔬菜幼苗生长及氧化酶同工酶的影响〔J〕. 环境科学学报，**11**（3）：370～374

张四美，陈维培，严素珍等，1985. 莼菜新芽采收的形态指标〔J〕. 园艺学报，**12**（1）：65～68

张志杰，吕秋芳，方芳，1989. 汞对小麦幼苗生长发育和生理功能的影响〔J〕. 环境科学，**10**（4）：10～13

张毓琪，陈叙龙，1993. 环境生物毒理学〔M〕. 天津：天津大学出版社，60～74

段昌群，王焕校，1995. 重金属对蚕豆的细胞遗传学毒理作用和对蚕豆根尖微核技术的探讨〔J〕. 植物学报，**37**（1）：14

施国新，徐祥生，王文等，1991. 莼菜腺毛的发育及其超微结构研究〔J〕. 西北植物学报，**11**（1）：29～35

施国新，徐祥生，陈维培，1993. 慈姑腋生小鳞片的发育及其超微结构研究〔J〕. 植物学报，**35**（增刊）：6～12

廖自基，1992. 微量元素的环境化学及生物效应〔M〕. 北京：中国环境科学出版社，324～358

Bogorad L，1975. Evolution of organelles and eukaryotic genomes〔J〕. *Science*，**188**：891～898

Spalting B P，1979. Effecting of divalent metal chlorides on respiration and extractable enzymatic activities of douglas fir needle litter〔J〕. *J Environ Qual*，**8**：105

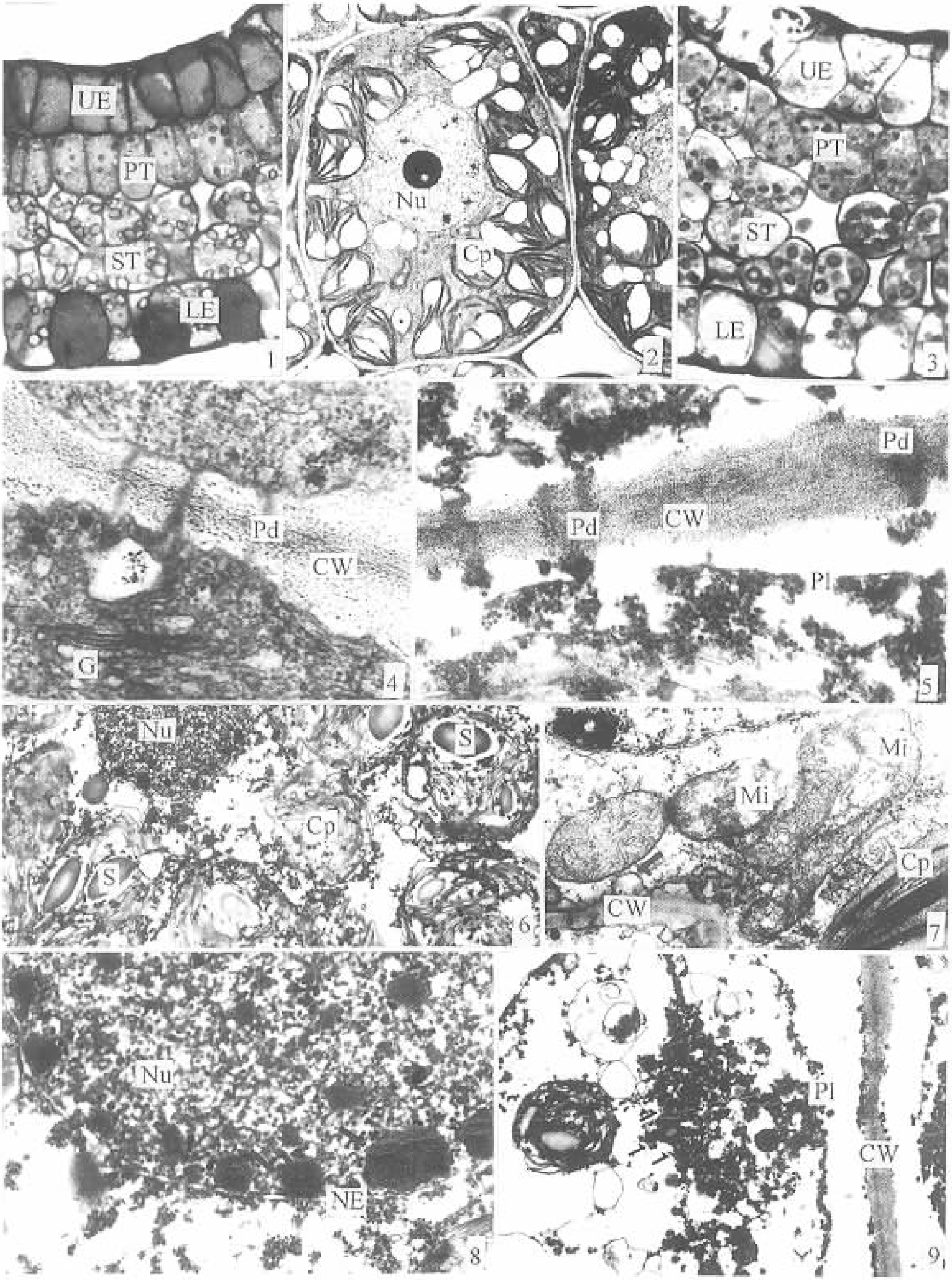
Stobart A K，Grifiths W T，Ameen－Bukari I，1985. The effect of Cd^{2+} on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley〔J〕. *Physiol Plant*，**63**：293

图版说明

图版 I：1、2、4（**对照**）；3、7（5mg/L $HgCl_2$ **处理**）；5、6、8（10 mg/L $HgCl_2$ **处理**）；9（15mg/L $HgCl_2$ **处理**）；1. **幼叶横切面，示上表皮**（UE），**栅栏组织**（PT），**海绵组织**（ST），**下表皮**（LE），×330；2. **示细胞核**（Nu），**叶绿体**（Cp），×5000；3. **幼叶横切面，示上表皮**（UE），**栅栏组织**（PT），**海绵组织**（ST），**下表皮**（LE），×330；4. **示胞间连丝**（Pd），**细胞壁**（CW），**高尔基体**（G），×50000；5. **示胞间连丝**（Pd）**拉断，质膜**（Pl）**收缩**，×60000；6. **示叶绿体**（Cp）**膨胀和解体，淀粉粒**（S），**细胞核**（Nu），×20000；7. **示线粒体**（Mi）**开始解体，质膜**（**箭头**）**内陷**，×25000；8. **示核仁解体成多个小核仁**（**箭头**），**分布于核膜**（NE）**附近**，×80000；9. **示质膜**（Pl）**收缩，细胞核解体**（**箭头**），×15000

Explanation of Plate

Plate I：1、2、4（Control），3、7（Treated with the concentration of $HgCl_2$ in 5mg/L），5、6、8（Treated with the concentration of $HgCl_2$ in 10mg/L），9（Treated with the concentration of $HgCl_2$ in 15mg/L）；1. Transection of a young leaf，showing upper epidermis（UE），palisade tissue（PT），spongy tissue（ST）and lower epidermis（LE），×330；2. Showing nuclei（Nu）and Chloroplast（Cp），×5000；3. Transection of a young leaf，showing upper epidermis（UE），palisade tissue（PT），spongy tissue（ST）and lower epidermis（LE），×330；4. Showing plasmodesmata（Pd），cell wall（WD）and Golgi apparatus（G），×50000；5. Showing plasmodesmata（Pd）snapped and plasmalemma（Pl）contracted，×60000；6. Showing chloroplasts（Cp）swelled and disintegrated，starch grains（S）and nucleus（Nu），×20000；7. Showing mitochondrium（Mi）begins to disintegrate and plasmolemma（arrows）shows contraction，×25000；8. Showing break of nucleolus into several small nucleoli（arrows）mainly distributed nearby the nuclear envelop（NE），×80000；9. Showing plasmalemma（Pl）contracted and nucleus broke down（arrows），×15000



See explanation at the end of text